

DOI:10.30901/2227-8834-2018-3-235-239

УДК.633.111.1:547.96:543.545.2

Е. В. Зуев,
Т. И. Пенева,
Н. М. Мартыненко,
А. Н. Брыкова,
Е. Ю. Кудрявцева

Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических
ресурсов растений
имени Н. И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург,
ул. Б. Морская, д. 42, 44
e-mail: e.zuev@vir.nw.ru

Ключевые слова:

яровая мягкая пшеница, сорт,
электрофоретический спектр
глиадина, идентификация

Поступление:

25.05.2018

Принято:

19.09.2018

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ
ЗЕРНА ДЛЯ КОНТРОЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
ЦЕЛОСТНОСТИ
ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ИЗ
КОЛЛЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ
ВИР**

Актуальность. В отделе генетических ресурсов пшеницы ВИР наряду с активными коллекциями, находящимися в живом состоянии, хранятся также в качестве эталонов оригиналы образцов. В процессе размножения и восстановления всхожести коллекций пшеницы необходим постоянный контроль за сортовой чистотой и подлинностью репродуцируемого образца. Для этой цели используют разновидности, которые описывают комплексы морфологических признаков колоса и зерновки. Однако иногда возникает необходимость проверить соответствие текущей репродукции образца его оригиналу. В этом случае электрофоретические спектры глиадина являются надежными маркерами в идентификации сортов и биотипов пшеницы.

Материалы и методы. В исследование были включены 7 образцов яровой мягкой пшеницы: 3 – для сорта 'Рубин' и 4 – для сорта 'Новинка'. Идентификация сортов методом электрофореза запасного белка глиадина проведена по общепринятой методике.

Результаты и выводы. В результате сравнения электрофоретических спектров глиадина образцов из коллекции генетических ресурсов растений ВИР с аналогичными образцами из других генбанков мира были восстановлены утерянные сорта 'Рубин' (Швеция) и 'Новинка' (Россия).

DOI:10.30901/2227-8834-2018-3-235-239

ORIGINAL ARTICLE

E. V. Zuev,
T. I. Peneva,
N. M. Martynenko,
A. N. Brykova,
E. Yu. Kudryavtseva

N. I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
42, 44, Bolshaya Morskaya St.,
St. Petersburg, 190000, Russia,
e-mail: e.zuev@vir.nw.ru

**USING GRAIN PROTEIN ELECTROPHORESIS TO
CONTROL THE GENETIC INTEGRITY OF SPRING
BREAD WHEAT ACCESSIONS FROM THE VIR
COLLECTION OF PLANT GENETIC RESOURCES**

Background. VIR's Department of Wheat holds the collections of viable accessions and its originals. The process of reproduction and restoration of germination ability in wheat collections requires monitoring of varietal purity and integrity. For this purpose, botanical varieties that describe sets of morphological characteristics of the spike and grain are used. However, sometimes it is necessary to check the conformity of a variety with its original accession. In this case, the gliadin electrophoretic banding patterns are reliable markers in identifying cultivars and biotypes of wheat. **Materials and methods.** The study included 7 accessions of spring bread wheat: 3 for the cultivar 'Rubin' and 4 for the cultivar 'Novinka'. Identification of accessions by electrophoresis of gliadin storage protein was carried out according to the generally accepted method. **Results and conclusions.** Comparison of gliadin electrophoretic banding patterns of the varieties from the VIR collection of plant genetic resources with analogous accessions from other genebanks of the world resulted in the recovery of the lost varieties 'Rubin' (Sweden) and 'Novinka' (Russia).

Key words:

spring bread wheat, cultivar, gliadin
electrophoretic banding pattern

Received:

25.05.2018

Accepted:

19.09.2018

Введение

В отделе генетических ресурсов пшеницы Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР) наряду с активными коллекциями, находящимися в живом состоянии, хранятся также в качестве эталонов оригиналы образцов. В процессе размножения и восстановления всхожести коллекций пшеницы необходим постоянный контроль за сортовой чистотой и подлинностью репродуцируемого образца. Для этой цели используют разновидности, которые описывают комплексы морфологических признаков колоса и зерновки (Zuev et al., 2013). Однако даже при соблюдении всех методик размножения, возможна потеря жизнеспособности некоторых образцов. В связи с этим в отделе генетических ресурсов пшеницы проводится систематическая работа по восстановлению утерянных или проблемных образцов коллекции. Для этого по выписке мы получаем необходимый материал из зарубежных открытых генбанков. Иногда возникает необходимость проверить соответствие присланного образца его оригиналу, хранящемуся в ВИР, но потерявшему всхожесть. В этом случае возможно использовать молекулярные маркеры.

В отделе биохимии и молекулярной биологии ВИР ежегодно проводятся исследования по контролю генетической целостности образцов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), исключению дублетов и ошибок при репродукции (Gubareva et al., 2012). В качестве маркеров для идентификации сортов пшеницы были использованы электрофоретические спектры глиадинов (Konarev et al., 2000). В данной работе приведены результаты исследования и сравнения спектров групп образцов, в результате которых были восстановлены два сорта в коллекции яровой мягкой пшеницы ВИР.

Материал и методика исследования

В исследование были включены 7 образцов яровой мягкой пшеницы. Группа шведского сорта ‘Рубин’ была представлена тремя образцами: NGB-6678 из Нордического генбанка, к-38203 и к-23698 из коллекции ВИР. Группа российского сорта ‘Новинка’ включала четыре образца: TRI 4921 из генбанка в Гатерлебене, PI 191351 из Американского генбанка, PL 20522 из Польского генбанка и к-21971 из коллекции ВИР (табл. 1).

Таблица 1. Образцы яровой мягкой пшеницы, включенные в исследование спектров глиадина

Table 1. Spring bread wheat accessions included in the study of gliadin spectra

Номер каталога	Генбанк	Название образца	Репродукция
NGB-6678	Norgen	Rubin	Пушкин, 2013
к-38203	ВИР	Рубин	Пушкин, 2013
к-23698	ВИР	Rubin	Оригинал, 1940
TRI 4921	IPK, Gatersleben	Novinka	Пушкин, 2008
PI 191351	NSGC	Novinka	Пушкин, 2014
PL 20522	NCPGR	Novinka	Павловск, 2017
к-21971	ВИР	Новинка	Пушкин, 1958

Исследования были проведены в отделе биохимии и молекулярной биологии ВИР в период с 2008 по 2017 гг. Электрофорез глиадина проводили в вертикальных пластинах 6,5% полиакриламидного геля в ацетатном буфере pH 3,1 по методике ВИР. Глиадин выделяли из единичных зерновок. Случайная выборка составляла

20–30 зерновок. Идентификацию компонентов и запись спектров глиадина в виде формул проводили по эталонному спектру в соответствии с принятой номенклатурой. В тех случаях, когда компоненты были представлены двумя или тремя субкомпонентами, для их обозначения использовали нижние индексы при сохранении основной позиции компонента. Очень слабые по интенсивности компоненты обозначали подчеркиванием компонента, очень интенсивные были выделены жирным шрифтом, средние по интенсивности компоненты представлены обычным шрифтом (Konarev et al., 2000).

Результаты и обсуждение

В 2012, 2013 гг. в отделе ГР пшеницы ВИР выполнялись работы по международному проекту «Выявление дублетов яровой мягкой пшеницы из скандинавских стран, представленных в коллекции генетических ресурсов растений ВИР (Уникальная научная установка (УНУ, регистрационный номер USU_505851) и Нордическом генбанке (Швеция)). Образцы с одинаковыми названиями, имеющиеся в двух генбанках, высевались парами на полях НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Было установлено, что сорт ‘Рубин’ из Нордического генбанка отличался от вировского образца. Шведский ‘Рубин’ (NGB-6678) относится к разновидности var. *lutescens* (Alef.) Mansf. (колос безостый, колосковая чешуя неопущенная белая, зерно красное), а из коллекции ВИР (к-38203) – к var. *ferrugineum* (Alef.) Mansf. (колос остистый, колосковая чешуя неопущенная красная, зерно красное). Образец к-38203 поступил в коллекцию в 1941 г. из Рижского института защиты растений от профессора Раскина. Сорт под названием «Рубин» был собран в районе Валмиера сел. Рагпурини (в настоящее время район Лимбажи). Изначально происхождение образца было – Латвия. Однако в середине 1960-х годов сотрудниками отдела пшеницы происхождение было изменено на «Швеция» по непонятным причинам. При просмотре оригиналов яровой мягкой пшеницы был обнаружен пакет к-23698 (номер был ликвидирован после Великой Отечественной войны 1941–1945 гг.), на котором значилось – сорт ‘Рубин’, Швеция, var. *lutescens*. При анализе спектров глиадина было установлено, что образцы NGB-6678 и к-23698 однородны и идентичны, а образец к-38203 сильно отличается от них (табл. 2). Таким образом, в коллекции ВИР под номером к-23698 был восстановлен шведский сорт ‘Рубин’ из Нордического генбанка. Для образца к-38203 были внесены изменения в паспортные данные: происхождение – Латвия, статус образца – местный сорт.

Таблица 2. Белковые формулы спектров сорта Рубин
Table 2. Gliadin formulas of the cultivar Rubin

Номер каталога, название образца, происхождение, репродукция	Формула глиадина			
	α	β	γ	ω
к-38203, местный сорт (Латвия), П-2013	5 7	2 4 ₁ 5 ₂	1 3 ₂ 5 ₂	4 ₁ 4 ₂ 6 ₂ 7 8 ₁ 9
NGB-6678, Рубин (Швеция), П-2013	3 4 5 ⁻	2 4 ⁻ 5 ⁻	1 3 4	Г 2 4 ⁻ 6 8 9 ⁻ 10
к-23698, Рубин (Швеция), оригинал 1940 г.	3 4 5 ⁻	2 4 ⁻ 5 ⁻	1 3 4	Г 2 4 ⁻ 6 8 9 ⁻ 10

Другие исследования были проведены для сорта яровой мягкой пшеницы ‘Новинка’ (к-21971). Сорт ‘Новинка’ был создан В. Е. Писаревым на Ленинградской селекционной станции и находился в производстве с 1926 по 1949 гг. Родословная сорта: Preston × Prelude, разновидность – var. *erythrospermum* Korn. (колос остистый, колосковая чешуя неопущенная белая, зерно красное). Сорт в коллекции ВИР был утерян в начале 1970-х годов. При поиске этого сорта в генбанках мира были сделаны запросы и получены образцы из Германии – Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK, Gatersleben), США – National Small Grains Collection (NSGC) и из Польского генбанка – National Centre for Plant Genetic Resources: Polish Genebank (NCPGR). Для всех запрашиваемых образцов по документации генбанков донором был ВИР. Образец из Немецкого генбанка (TRI 4921), высеванный в 2008 г. на Пушкинских полях института, по морфологическим характеристикам соответствовал описанию сорта ‘Новинка’. При сравнении спектров глиадина образца TRI 4921 и хранящегося в ВИР оригинала репродукции – Пушкин 1958 г., были установлены небольшие различия по зоне ω (табл. 3).

В 2014 г. на полях института в Пушкине был изучен образец сорта ‘Новинка’, полученный из США (PI 191351). Сорт был среднерослым, разновидность *erythrospermum*. Спектр глиадина образца PI 191351 отличался от спектра образца вировской репродукции – Пушкин 1958 г. по α -зоне (см. табл. 3). В связи с этим американский образец был выбракован.

В 2016 г. из Польского генбанка был получен сорт ‘Новинка’ (PL 20522). После высеяния образца на Павловском карантинном питомнике ВИР была изучена репродукция 2017 г. Спектр глиадина образца PL 20522 оказался идентичен репродукции Пушкин 1958 г. В результате проведенных исследований в коллекции ВИР был восстановлен российский сорт ‘Новинка’, отсутствующий в живом состоянии с 1979 г.

Таблица 3. Белковые формулы спектров сорта Новинка
Table 3. Gliadin formulas of the cultivar Novinka

Номер каталога, генбанк, репродукция	Формула глиадина			
	α	β	γ	ω
к-21971, ВИР, Пушкин 1958 г.	$5\bar{6}\ 7_1$	$2\bar{3}_1\ 4\bar{5}_2$	$1\bar{3}\ 4$	$2\bar{4}_1\ \bar{5}6\ \bar{7}_1\ \bar{8}9_2$
PL 20522, NCPGR, Павловск 2017 г.	$5\bar{6}\ 7_1$	$2\bar{3}_1\ 4\bar{5}_2$	$1\bar{3}\ 4$	$2\bar{4}_1\ \bar{5}6\ \bar{7}_1\ \bar{8}9_2$
TRI 4921, IPK, Пушкин 2008 г.	$5\bar{6}\ 7_1$	$2\bar{3}_1\ 4\bar{5}_2$	$1\bar{3}\ 4$	$2\bar{4}_1\ \bar{5}6\ \bar{7}_1\ \bar{8}9_2\ 10\bar{1}$
PI 191351, NSGC, Пушкин 2014 г.	$2\bar{4}\ 6\bar{7}_1$	$2\bar{3}_1\ 4\bar{5}_2$	$1\bar{3}\ 4$	$2\bar{4}_1\ \bar{5}6\ \bar{7}_1\ \bar{8}9_2$

Выводы

В результате сравнения электрофоретических спектров глиадина образцов из коллекции генетических ресурсов растений ВИР с аналогичными образцами из других генбанков мира были восстановлены утерянные сорта яровой мягкой пшеницы ‘Рубин’ (Швеция) и ‘Новинка’ (Россия). Также считаем целесообразным вести поиск в открытых генбанках мира проблемных или потерявших всхожесть образцов пшеницы из коллекции ВИР для их восстановления, используя в качестве маркеров для идентификации электрофоретические спектры глиадинов.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № 0662-2018-0009 «Развитие современных технологий паспортизации сортов и гибридов, генотипирования мировых растительных ресурсов и их фитосанитарного мониторинга с использованием молекулярных маркеров», номер государственной регистрации: ЕГИСУ НИОКР AAAA-A16-116040710356-4.

References/Литература

- Gubareva N. K., Martynenko N. M., Zuev E. V., Brykova A. N. Prospects of grain protein electrophoresis for the control of genetic integrity, updating passport data and finding doublets for the spring bread wheat collection // Proceedings on applied botany, genetics and breeding, 2012, vol. 170, pp. 158–165 [in Russian] (Губарева Н. К., Мартыненко Н. М., Зуев Е. В., Брыкова А. Н. Перспективы использования электрофореза белков зерна для контроля генетической целостности, уточнения паспортных данных и выявления дублетов в коллекции яровой мягкой пшеницы // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2012. Т. 170. С. 158–165).
- Konarev V. G., Konarev A. V., Gubareva N. K., Peneva T. I. Seed proteins as markers in resolving the problems of genetic plant resources, selection and seed production // Cytology and genetics, 2000, vol. 34, no 2, pp. 91–104 [in Russian] (Конарев В. Г., Конарев А. В., Губарева Н. К., Пенева Т. И. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства // Цитология и генетика. 2000. Т. 34, № 2. С. 91–104).
- Konarev V. G., Gavriljuk I. P., Gubareva N. K., et al. Identification of Varieties and Registration of the Genofond of Cultivated Plants by Seed Proteins. SPb. : VIR, 2000, 320 p. [in Russian] (Конарев В. Г., Гаврилюк И. П., Губарева Н. К., и др. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян. СПб. : ВИР, 2000. 320 с.).
- Zuev E. V., Amri A., Brykova A. N., Pyukkenen V. P., Mitrofanova O. P. Atlas of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity based on spike and kernel characters. St. Petersburg ; Novosibirsk, 2013, 131 p. [in Russian] (Зуев Е. В., Амри А., Брыкова А. Н., Пюккенен В. П., Митрофанова О. П. Атлас разнообразия мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) по признакам колоса и зерновки. СПб. ; Новосибирск, 2013. 131 с.).